BONPLANDIA 9 (1-2):95-102. 1996

RELACIONES GENOMICAS ENTRE LAS ESPECIES DIPLOIDES DE FLORES BLANCO-AZULADAS DE *TURNERA* (SERIE *CANALIGERAE*)

por AVELIANO FERNANDEZ y MARIA M. ARBO[1]

Summary

T. candida Arbo, *T. grandiflora* (Urban) Arbo, *T. caerulea* DC. and *T. caerulea* var. *surinamensis* (Urb.) Arbo & A. Fernández *nov. comb.*, all 2n=2x=10, were crossed to investigate their cytogenetic relationships. All the hybrids had 2n=2x=10 with a high mean of bivalents (4.92-5) and a low mean of ring bivalents (1.66-3.60). The cytogenetic analysis of all the hybrids among these species indicates that they have the same basic genome. In a previous paper the genomic formulas of *T. caerulea* and *T. grandiflora* were designated as CC and C^gC^g respectively. We propose C^cC^c for *T. candida* because it has a homeologous genome with the other species and C^1C^1 for *T. caerulea* var. *surinamensis*.

Introducción

El género *Turnera* cuenta con alrededor de 100 especies que viven desde el sur de E.E.U.U. hasta el centro de Argentina, aproximadamente 38°S (Arbo, 1987). Urban (1883) lo estructuró en nueve series. Presenta tres números básicos: x=5, x=7 y x=13, siendo la serie *Canaligerae* la única con x=5 (Fernández, 1987). En dicha serie se llevó a cabo un programa de cruzamientos controlados con el que se obtuvieron varios híbridos interespecíficos. Un grupo de 15 especies de la serie constituye el complejo *Turnera ulmifolia*, en el que se encuentran especies con flores amarillas y especies con flores blanco-azuladas, y diferentes niveles de ploidía. *Turnera ulmifolia* L. *sensu stricto* es una especie alohexaploide de flores amarillas. Se hicieron estudios citogenéticos en varios híbridos de este complejo, analizando las relaciones genómicas entre todas las especies diploides de flores amarillas (Fernández y Arbo, 1989) y entre especies poliploides y diploides (Fernández y Arbo, 1990, 1993a, 1993b). A pesar de que se hicieron numerosos cruzamientos, nunca se obtuvieron híbridos entre las especies diploides de flores blanco-azuladas y las de flores amarillas del complejo *T. ulmifolia* (Arbo y Fernández, 1987).

El objetivo del presente trabajo es el análisis citogenético de los híbridos entre los cuatro taxones diploides (2n=2x=10) de flores blanco-azuladas: *T. grandiflora* (Urb.) Arbo, *T. caerulea* DC., *T. candida* Arbo y *T. caerulea* var. *surinamensis* (Urb.) Arbo y A. Fernández *nov. comb.*[2].

Material y métodos

Los progenitores se indican con la sigla utilizada en el invernáculo. Los ejemplares testigo se conservan en el Herbario del Instituto de Botánica del Nordeste (CTES).

[1] Instituto de Botánica del Nordeste (Universidad Nacional del Nordeste - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), C.C. 209, 3400 Corrientes, Argentina. Email: ctogenet@unneib.edu.ar

[2] *T. caerulea* DC. var. *surinamensis* (Urb.) Arbo & A. Fernández *nov.comb.* Basónimo: *T. ulmifolia* L. var. *surinamensis* Urb., Jahrb. Königl. Bot. Gart. 2: 143. 1883. Lectotipo aquí designado: Suriname, ad vias distr. Para, Feb-Abr 1844, Kappler 1519 (W!), isotipos: FI!, MO!, P!. Sinónimo: *T violacea* Brandegee, Univ. Calif. Publ. Bot. 10: 412, 1924. Tipo: México, Chiapas, Hacienda Montserrate, Purpus 9092 (UC n.v., isotipos MEXU!, US!). Citado como *T. surinamensis* (Urb.) Arbo comb.ined. en Arbo y Fernández (1987) y Fernández (1987).

T. candida.- (B) Hatschbach 56662: Brasil, Bahia, Livramento do Brumado, rodovia para Rio de Contas. Hatschbach 56713: Brasil, Bahia, Rio de Contas.

T. grandiflora.- (G2) Fernández 366: Argentina, Corrientes, Paso de la Patria. (G3) Fernández 367: Argentina, Corrientes, Sombrero, INTA. (G4) Arbo 2696: Argentina, Formosa, ca. río Bermejo. (G5) Tressens 3173: Argentina, Corrientes, ca. Empedrado.

T. caerulea.- (C1) Krapovickas 37914: Brasil, Goiás, ca. Colinas. (C2) Krapovickas 38740: Brasil, Piauí, Bom Jesus. Hatschbach 29541: Brasil, Mato Grosso, Serra do Urucum. Pires 52163: Brasil, Amapá, Rio Pedreira.

T. caerulea var. *surinamensis*.- (Y) Krapovickas 38751: Brasil, Piauí, Floriano. Krapovickas 37217: Maranhão, 10 Km W del puente a Teresina. Krapovickas 37160: Pará, Santarem.

T. caerulea o var. *surinamensis*.- Amaral 1390: Brasil, Pará, Santarem. Hatschbach 38284: Brasil, Goiás, Rio Canabrava. Pires 50981: Brasil, Amapá, Rio Araguari.

A continuación se citan los híbridos obtenidos. Se indican con un asterisco los utilizados para estudiar la meiosis.

* *T. grandiflora* (G2) x *T. candida* (B): Arbo y Fernández s.n.

* *T. grandiflora* (G2) x *T. caerulea* (C2): Arbo y Fernández 2970.

T. grandiflora (G4) x *T. caerulea* (C2): Arbo y Fernández 2971

T. grandiflora (G5) x *T. caerulea* (C2): Arbo y Fernández 2972

* *T. grandiflora* (G2) x *T.caerulea* var. *surinamensis* (Y): Arbo 2583

T. caerulea (C2) x *T. grandiflora* (G2): Arbo 2700

T. caerulea (C2) x *T. caerulea* var. *surinamensis* (Y): Arbo y Fernández 2710

T. caerulea var. *surinamensis* (Y) x *T. grandiflora* (G2): Arbo y Fernández 2727

T. caerulea var. *surinamensis* (Y) x *T. grandiflora* (G3).

El procedimiento usado para los cruzamientos está descripto en Arbo y Fernández (1987). Los métodos usados para análisis mitóticos y meióticos y fertilidad de polen están descriptos en Fernández (1987). Los promedios de los bivalentes cerrados de los híbridos fueron comparados con el test de Tukey.

Resultados

Cruzamientos

Se realizaron 140 cruzamientos, obteniéndose 45 frutos con 391 semillas, pero únicamente se lograron 11 híbridos (Tabla 1). Aparentemente las semillas eran buenas, pero germinaron muy pocas. Entre los cruzamientos realizados hay cuatro entre híbridos y 15 retrocruzas. Como se ve en la Tabla 1, en ninguno de los cruzamientos involucrando híbridos se obtuvieron semillas viables.

Meiosis

Los progenitores muestran meiosis regular formando siempre 5 II (Fernández, 1987). Los híbridos estudiados presentaron también 5 II (Fig. 1A, B y C) en todas las células analizadas a excepción de *T. grandiflora* x *T. candida* donde se observó el 7,40 % de células con 2 I + 4 II y un promedio de bivalentes de 4,92 (Tabla 2). En el híbrido *T. caerulea* var. *surinamensis* x *T. grandiflora* se analizaron 13 CMP en anafase I, observándose una segregación regular de 5-5 cromosomas (Fig. 1D); no se observaron puentes ni fragmentos. Las 44 CMP estudiadas en M II mostraron una distribución de 5 cromosomas en cada uno de los dos núcleos. El híbrido del cruzamiento recíproco *T. grandiflora* x *T. caerulea* var. *surinamensis* también mostró 5 cromosomas en cada uno de los núcleos de la M II en 38 CMP.

En la Tabla 2 se indica además el promedio de bivalentes cerrados en los progenitores y en los híbridos. Se contabilizaron únicamente las CMP en las que se pudo observar claramente si los bivalentes eran cerrados o abiertos. El mayor promedio de bivalentes cerrados (3,6) se encontró en *T. grandiflora* x *T. caerulea* y el menor (1,66) en *T. grandiflora* x *T. caerulea* var. *surinamensis*.

La diferencia entre el promedio de bivalentes cerrados del híbrido *T grandiflora* x *T. caerulea* y el de los híbridos *T. grandiflora* x *T.*

Tabla 1. Cruzamientos realizados y resultados obtenidos.

Cruzamientos	Número	Frutos obtenidos	% de éxitos	Semillas obtenidas	Híbridos	%
T. grandiflora x *T. candida*	10	6	60	130	1	0.8
T. grandiflora x *T. caerulea*	62	17	27	123	6	4.8
T. grandiflora x *T. caerulea* var. *surinamensis*	28	10	36	73	3	4.1
T. caerulea x *T. caerulea* var. *surinamensis*	21	9	43	65	1	1.5
(*T. grandiflora* x *T. caerulea* var. *surinamensis*) x *T. grandiflora*	7	1	3	—	—	—
(*T. grandiflora* x *T. caerulea* var. *surinamensis*) x *T. caerulea*	2	1	3	—	—	—
(*T. grandiflora* x *T. caerulea*) x *T. grandiflora*	6	1	10	—	—	—
(*T. grandiflora* x *T. caerulea*) x (*T. grandiflora* x *T. candida*)	4	—	—	—	—	—

Tabla 2. Promedio y variación de las asociaciones cromosómicas en metafase I en progenitores e híbridos diploides de *Turnera* x=5.

Progenitores e híbridos	I	II	CMP	IIc	CMP
T. candida		5	34	4,78±0,14	19
T. grandiflora		5	98	4,82±0,05	41
T. caerulea		5	76	5	12
T. caerulea var. surinamensis		5	51	3,96±0,16	26
T. grandiflora x T. candida	0.14±0,1 0-2	4,92±0,05 4-5	25	2,23±0,21	17
T. grandiflora x T.caerulea		5	45	3,60±0,09	30
T. grandiflora x *T. caerulea var. surinamensis*		5	12	1,66±0,16	10

Tabla 3. Fertilidad de polen en progenitores e híbridos

Progenitor o híbrido	ejemplar	% fert.	Promed.
T candida	B	70.28 (70.3-84.2)	
	Hatschb.56713	84.19	77.23
T. grandiflora	G2	96.82 (92.7-99)	
	G3	94.73	
	G4	98.35 (97.6-99)	
	G5	71.84	
	G6	88.00	89.94
T. caerulea	C1	70.66	
	C2	90.53 (86-94)	
	Hatschb.29541	96.11	
	Pires 52163	59.67	79.24
T. caerulea var. *surinamensis*	Y	64.83 (38.7-81)	
	K.37217	87.08	
	K.37160	71.70	74.51
T. caerulea o var. *surinamensis*	Amaral 1390	75.17	
	Hatschb.38284	75.05	
	Pires 50981	60.00	70.07
T. grandiflora x *T candida*	G2 x B	19.72 (13-25)	
T. grandiflora x *T. caerulea*	C1 x G2	15.26 (13.2-17.3)	
	G2 x C2	22.15 (12.4-29.6)	
	G4 x C2	12.28 (9.1-14.9)	
	G5 x C2	25.49 (16.3-34.7)	18.80
T. grandiflora x *T. caerulea* var. *surinamensis*	G2 x Y	21.51 (6.84-32)	
	Y x G2	48.84	
	Y x G3	58.07 (48.6-64.1)	42.80
T. caerulea x var. *surinamensis*	C2 x Y	66.65 (28.4-88.66)	

candida y *T. grandiflora* x *T. caerulea* var. *surinamensis*. es significativa (p<0,01).

Polen

En la Tabla 3 figura la fertilidad promedio del polen de progenitores e híbridos. *T. candida* tiene una fertilidad promedio de 77,23%. *T. grandiflora* es la especie con porcentaje promedio más alto de polen coloreado (89,94%), teniendo el progenitor G2 una fertilidad media de 96,82%.

En *T. caerulea*, la fertilidad promedio de polen es de 79,24%. El progenitor usado (C2) presenta 90,53%, mientras que la otra accesión y el material herborizado muestran una variación entre 60% y 96%.

T. caerulea var. *surinamensis* es la entidad que presenta menor fertilidad promedio (74,51 %). La accesión utilizada para las hibridaciones (Y) tiene fertilidad bastante baja (64,83 %); sin embargo, en material herborizado (K. 37217 y 37160) hay porcentajes más altos.

Los híbridos que tienen menor fertilidad de polen son *T. grandiflora* x *T. caerulea* (G4 x C2)

Tabla 4. Tamaño promedio del polen en progenitores e híbridos.

Progenitor o híbrido	Brevistila	Longistila
T. grandiflora (G2)	70.74 ± 0.29 (60-78)	57.97 ± 0.34 (48-78)
T. caerulea (C2)		54.05 ± 0.27 (48-66)
G2 x C2	65.61 ± 0.66 (51-81)	
G4 x C2	59.52 ± 0.41 (51-72)	59.49 ± 0.10 (51-69)
G5 x C2	62.47 ± 0.81 (48-93)	63.52 ± 0.49 (54-91)
G2 x Y	66.87 ± 0.91 (54-105)	

con 12% y (C1 x G2) con 15%. Estos híbridos presentan, además, algunos granos con número atípico de aperturas (4-5). *T. grandiflora* x *T. candida* tiene 20 % de fertilidad, mientras que *T. caerulea* x *T. caerulea* var. *surinamensis* presenta un promedio de 66%. Entre *T. grandiflora* y *T. caerulea* var. *surinamensis* se obtuvieror tres híbridos. G2 x Y tiene una fertilidad promedio de 21,5 %, y presenta alta frecuencia de granos de polen unidos, resultantes de tétrades con citocinesis fallida o anormal (Fig. 1E). Los otros híbridos presentan fertilidad más alta, y no se observan granos anormales.

En las especies heterostilas se observa comúnmente una diferencia marcada en el tamaño promedio entre el polen de plantas

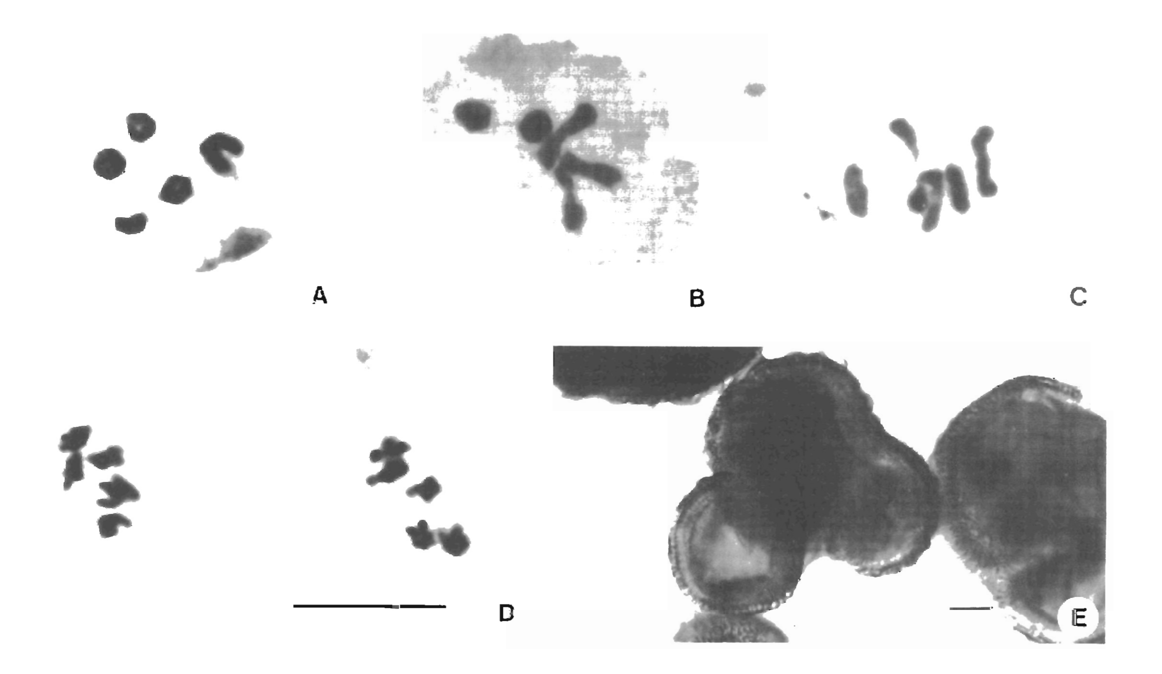


Fig. 1. Cromosomas meióticos y polen de los híbridos. A, *T. grandiflora* x *T. caerulea*, metafase I con 5 II; B, *T. grandiflora* x *T. candida*, metafase I con 5 II; C y D, *T. caerulea* var. *surinamensis* x *T. grandiflora*, C, metafase I con 5 II; D, anafase I, segregación normal; E, *T. grandiflora* x *T. caerulea* var. *surinamensis*, polen anormal.

longistilas y el de plantas brevistilas, y ésto se mantiene en los híbridos anteriormente estudiados (Fernández y Arbo, 1989 y 1990). *T.grandiflora* y *T. caerulea* son heterostilas, sin embargo los híbridos entre estas especies presentan heterostilia no asociada con dimorfismo polínico (Tabla 4).

Morfología.

T. candida presenta hojas ovadas o elípticas finamente aserradas y flores homostilas de 2-3 cm long. con pétalos blancos de base amarilla, a veces con venas violáceas.

T.grandiflora, T. caerulea y *T. caerulea* var. *surinamensis* son heterostilas. *T.grandiflora* posee hojas ovadas o elípticas y flores de 3-6 cm long., pétalos blanco-violáceos con mácula basal morada de borde superior esfumado. *T.caerulea* presenta hojas ovadas o elípticas y flores de 2-3 cm long. con pétalos blancos de base amarilla. *T. caerulea* var. *surinamensis* tiene hojas lineares y flores de 2-3 cm long. con pétalos blancos, base amarilla o violácea y venas violáceas hacia la base y en la cara externa.

Los híbridos presentan, como es usual, caracteres intermedios entre los progenitores, tanto en el aspecto vegetativo como en el tamaño y color de las flores. El híbrido *T.grandiflora x T.candida* presenta flores longistilas, con gineceo marcadamente más largo que el androceo. Todos los híbridos de *T.grandiflora* presentan la mancha violácea con borde superior esfumado.

Discusión y conclusiones

La meiosis de los híbridos es aparentemente normal, pero sin embargo la fertilidad de polen en general es baja. Teniendo en cuenta el alto promedio de bivalentes, la baja fertilidad se debe probablemente a hibridez estructural críptica (Stebbins, 1971). La presencia de univalentes en las células del híbrido *T. grandiflora x T. candida* y su baja fertilidad indicarían que *T. grandiflora* está genéticamente más diferenciada de *T. candida* que de las otras entidades.

Turnera grandiflora parece ser más afín filogenéticamente con *T. caerulea* y *T. caerulea* var. *surinamensis*, pues en sus híbridos solamente aparecen bivalentes. El promedio más elevado de bivalentes cerrados observado en el híbrido indicaría que *T. grandiflora* tiene más afinidad con *T. caerulea* que con *T. caerulea* var. *surinamensis.* Sin embargo, el porcentaje de fertilidad es mucho mayor en dos de los híbridos con el segundo taxón. Las diferencias en el apareamiento de los cromosomas concuerdan con la morfología y sistema reproductivo de estas especies, pues *Turnera candida* es homostila y autocompatible mientras *T. grandiflora* y *T.caerulea* son heterostilas y autoincompatibles.

No hay coherencia completa en la información obtenida sobre las relaciones entre *T. caerulea* y *T. caerulea* var. *surinamensis*. Ambos taxones tienen una distribución geográfica disyunta: viven en México y en América del Sur. Las áreas de distribución se superponen en su mayor parte en América del Sur, pero *T. caerulea* var. *surinamensis* se extiende hacia el NE mientras *T.caerulea* se expande más hacia el SW. *T. caerulea* var. *surinamensis* vive en las Guayanas y N y NE de Brasil (desde Amazonas y Amapá hasta Tocantins y Bahia), y *T. caerulea* en Brasil (desde Roraima y Amapá hasta Goiás y Mato Grosso do Sul) y Bolivia.

El material original de los dos taxones se diferencia por caracteres vegetativos como tamaño de la planta, forma, indumento y relación largo:ancho de las hojas, y por caracteres florales como la coloración de los pétalos. Existe una proporción de material herborizado que resulta arbitrario asignar a una u otra entidad. El material dudoso presenta caracteres intermedios o combinaciones variables de los mismos, y las muestras estudiadas para fertilidad de polen presentan porcentajes relativamente bajos. Sin embargo, también presentan baja fertilidad algunos ejemplares asignados por su morfología a una u otra entidad, como por ejemplo el progenitor *T. caerulea* var. *surinamensis* (Y) y Pires 52163 de *T. caerulea.*

El híbrido *T. caerulea* x *T. caerulea* var. *surinamensis* es el que presenta fertilidad de polen más alta, lo que indica que los progenitores son muy afines, a pesar de sus diferencias morfológicas. Es importante señalar que las dos accesiones usadas en los cruzamientos provienen de Piauí, de localidades situadas a 400 km de distancia. Sin embargo, los híbridos

obtenidos entre cada progenitor y *T. grandiflora* presentan comportamiento citológico diferente, sugiriendo que se trata de entidades distintas. Probablemente *T. caerulea* y *T. caerulea* var. *surinamensis* son dos taxones que están en proceso de diferenciación o entre los cuales hay introgresión, o constituyen una sola especie con variabilidad considerable, probablemente vinculada con su amplia distribución. En este caso, el progenitor usado (Y) representaría un extremo de la variación. En *T. ulmifolia* se realizaron cruzamientos intraespecíficos utilizando nueve accesiones y en los híbridos obtenidos se encontró una variación de 49 - 99.5 % en la fertilidad de polen (Shore, Baker & Arbo, en preparación).

Los resultados alcanzados hasta el momento indican que la alternativa más coherente es considerar los dos taxones como variedades de la misma especie, ya que son simpátricas en la mayor parte de su área. Para evaluar la importancia taxonómica de la variabilidad observada habría que obtener otras accesiones y utilizarlas en cruzamientos.

Los cariotipos de todas las especies diploides del complejo *T. ulmifolia* están compuestos por 8m + 2sm, combinación considerada como cariotipo fundamental (Solís Neffa y Fernández, 1993). Las cuatro especies diploides de flores amarillas (*T. concinna*, *T. Krapovickasii*, *T. scabra* y *T. subulata*) poseen genomas básicos comunes (Fernández y Arbo, 1989), y lo mismo sucede con las cuatro entidades de flores blanco-azuladas. Sin embargo, la imposibilidad de obtener híbridos entre ambos grupos sugiere que ellos evolucionaron en forma distinta y que están aislados reproductivamente uno del otro, lo que indica que los genomas son diferentes. Por otra parte, la obtención de híbridos entre las especies poliploides y las diploides de los dos grupos confirma que ambos pertenecen al complejo *T. ulmifolia* (Arbo y Fernández 1987; Fernández y Arbo 1990, 1993a, 1993b).

Entre las especies de flores amarillas se encontraron citotipos diploides y tetraploides en *T. subulata*, *T. Krapovickasii* y *T. scabra*. Los tetraploides se comportan citológicamente como autotetraploides (Arbo y Fernández, 1983; Fernández, 1987; Shore, 1991a, 1991b). Entre las especies de flores blanco-azuladas se encontró una sola, *T. grandiflora*, con dos citotipos: diploide ($2n=2x=10$) y octoploide ($2n=8x=40$). En este último está repetido 8 veces el cariotipo haploide fundamental (Solís Neffa y Fernández, 1993) y se comporta meióticamente como autooctoploide (Fernández, 1987), pero no se obtuvieron híbridos entre ambos citotipos a pesar de los numerosos intentos realizados.

En trabajos anteriores se propuso denominar la fórmula genómica de *T. caerulea* como CC (Fernández y Arbo, 1990) y la de *T. grandiflora* como C^gC^g (Fernández y Arbo, 1993a). Siguiendo el mismo criterio y por los resultados citogenéticos obtenidos, la fórmula genómica de *T. candida* sería C^cC^c y la de *T. caerulea* var. *surinamensis* sería C^1C^1. Las cuatro entidades tendrían genomas básicos comunes.

Agradecimientos

Este trabajo se llevó a cabo con el apoyo económico de la SECYT-UNNE y del CONICET.

Bibliografía

ARBO, M.M. 1987. *Turneraceae* en R.Spichiger, Flora del Paraguay. Conserv. et Jard. bot. Genève & Missouri Bot. Garden. 65 págs.

ARBO, M. M. y A. FERNANDEZ. 1983. Posición taxonómica, citología y palinología de tres niveles de ploidía de *Turnera subulata* Smith. Bonplandia 5(23): 211-226.

——. 1987. Cruzamientos intra e interespecíficos en *Turnera*, serie *Canaligerae*. Bonplandia 6(1): 23-38.

FERNANDEZ, A. 1987. Estudios cromosómicos en *Turnera* y *Piriqueta* (*Turneraceae*). Bonplandia 6(1): 1-21.

FERNANDEZ, A. y M.M. ARBO. 1989. Relaciones genómicas entre cuatro especies diploides de *Turnera* con flores amarillas (Serie *Canaligerae*). Bonplandia 6(2): 93-109.

——. 1990. Gametas no reducidas y relaciones genómicas en tres especies de *Turnera* (*Turneraceae*). Darwiniana 30 (1-4): 21-26.

——. 1993a. Relaciones genómicas entre seis especies de *Turnera* (Serie *Canaligerae*) del Paraguay. Candollea 48: 305-318.

——. 1993b. Citogenética de híbridos entre *Turnera grandidentata* (4x) y *T. subulata* y *T. scabra* (2x) (*Turneraceae*). Bonplandia 7(1-4): 119-127.

SHORE, J.S. 1991a. Chromosomal evidence for autotetraploidy in the *Turnera ulmifolia* complex (*Turneraceae*). Can. j. Bot. 69: 1302-1308.

SHORE, J.S. 1991b. Tetrasomic inheritance and isozyme

variation in *Turnera ulmifolia* vars. *elegans* Urb. and *intermedia* Urb. (*Turneraceae*). Heredity 66: 305-312.

SHORE, J.S., A.BAKER & M.M.ARBO. Morphological variation, crossability and fertility among populations of *Turnera ulmifolia*, and recognition of a new species. En preparación.

SOLIS NEFFA, V.G. y A. FERNANDEZ. 1993. Estudios cromosómicos en especies de *Turnera* (*Turneraceae*). Bonplandia 7(1-4): 101-118.

STEBBINS, G.L. 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. Adisson-Wesley Publishing Company. Massachusetts.

URBAN, I. 1883. Monographie der familie der Turneraceen. Jahrb. Königl. Bot. Gart. Berlin 2: 1-156.